Streptex* FR

DOMAINE D'APPLICATION

Streptex* est un test rapide au latex permettant la détection qualitative des streptocoques et l'identification de leur groupe d'après la classification de Lancefield. Les réactifs fournis permettent d'identifier les groupes A, B, C, D, F et G qui représentent la majeure partie des isolats cliniques,[6] les streptocoques du groupe E étant rarement isolés.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

La majorité des espèces de streptocoques possèdent des antigènes spécifiques du groupe auquel ils appartiennent et qui sont en général des composants de la paroi cellulaire, à structure d'hydrates de carbone. Lancefield a montré que ces antigènes pouvaient être extraits sous forme soluble et identifiés par des réactions de précipitation avec des antisérums homologues[12]. Plusieurs procédures d'extraction des antigènes ont été décrites[3,4,10,13,17,18]. Le système Streptex* utilise une extraction enzymatique simple ; un système d'extraction acide plus rapide est également disponible (coffret d'extraction acide Streptex*, ZL59/R30951301).

La principale utilisation de ce test est l'identification de streptocoques se développant sur les boîtes de gélose, mais des résultats satisfaisants ont été obtenus après une heure d'extraction à partir de bouillons purs de cultures[8].

PRINCIPE DE LA METHODE

Les antigènes spécifiques du groupe sont extraits des streptocoques lors d'une étape d'incubation simple. Les antigènes sont alors identifiés à l'aide de particules de latex-polystyrène recouvertes d'anticorps spécifiques du groupe. Ces particules de latex s'agglutinent fortement en présence de l'antigène homologue alors qu'elles restent en suspension homogène en l'absence de celui-ci.

REACTIFS

COMPOSITION DU COFFRET

Streptex*	50 tests (ZL50/R30950501)	200 tests (ZL61/R30164701)
1. Latex groupe A (ZL51/R30950601)	1 flacon compte-gouttes (bouchon bleu pâle)	4 flacons compte-gouttes (bouchons bleu pâle)
2. Latex groupe B (ZL52/R30950701)	1 flacon compte-gouttes (bouchon rose)	4 flacons compte-gouttes (bouchons roses)
3. Latex groupe C (ZL53/R30950801)	1 flacon compte-gouttes (bouchon marron)	4 flacons compte-gouttes (bouchons marrons)
4. Latex groupe D (ZL54/R30950901)	1 flacon compte-gouttes (bouchon bleu foncé)	4 flacons compte-gouttes (bouchons bleu foncé)
5. Latex groupe F (ZL56/R30951101)	1 flacon compte-gouttes (bouchon gris)	4 flacons compte-gouttes (bouchons gris)
6. Latex groupe G (ZL57/R30951201)	1 flacon compte-gouttes (bouchon jaune)	4 flacons compte-gouttes (bouchons jaunes)
7. Contrôle positif polyvalent (ZL58/R30164601)	1 flacon compte-gouttes (bouchon rouge)	2 flacons compte-gouttes (bouchons rouges)
8. Enzyme d'extraction (ZL55/R30951001)	2 flacons	8 flacons
9. Bâtonnets d'homo-généisation jetables	3 paquets	12 paquets
10. Cartes de réaction jetables (RT02/R30368601)	2 paquets	8 paquets
11. Notice d'utilisation	1	1

DESCRIPTION, PREPARATION POUR UTILISATION ET CONDITIONS DE CONSERVATION RECOMMANDEES

Voir aussi la partie **Précautions et restrictions d'emploi**

Un portoir amovible destiné à contenir tous les réactifs nécessitant une conservation au réfrigérateur est fourni avec chaque coffret. Un portoir plus grand est fourni avec le coffret ZL61/R30164701 pour la conservation des réactifs plus volumineux. Pour garder leur activité jusqu'à la date de péremption du coffret, tous les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8°C, sauf indication contraire.

Cartes de réaction et de bâtons de mélange doit être conservé à température ambiante (15-30 º C)

LATEX

Suspensions latex

6 (ZL50/R30950501) ou 4 x 6 (ZL61/R30164701) flacons compte-gouttes en plastique, respectivement spécifiques des groupes A, B, C, D, F et G, contenant chacun un minimum de 1,2 ml (quantité suffisante pour 50 tests). Les particules de latex-polystyrène, recouvertes d'anticorps purifiés de lapin dirigés contre l'antigène du groupe approprié, sont en suspension à une concentration de 0,5% dans du tampon phosphate (pH 7,4) contenant de l'azide de sodium (0,1%).

Les suspensions latex sont fournies prêtes à l'emploi et doivent être conservées en position verticale à une température comprise entre 2 et 8°C pour leur permettre de conserver leur activité au moins jusqu'à la date inscrite sur l'étiquette du flacon. Après une conservation prolongée, la formation d'agrégats ou un assèchement du haut du flacon peuvent se produire. Dans ce cas, agiter vigoureusement les flacons pendant quelques secondes jusqu'à ce que la resuspension soit complète. NE PAS CONGELER.

EXTRACTION ENZYME

Enzyme d'extraction

2 (ZL50/R30950501) ou 8 (ZL61/R30164701) flacons contenant une fraction protéolytique lyophilisée extraite de cultures de *Streptomyces griseus* contenant du chlorure de calcium. Après reconstitution, la solution à concentration de travail contient du Bronopol (0,01%) comme conservateur.

Reconstituer un flacon d'enzyme d'extraction en ajoutant 11 ml d'eau distillée stérile. Laisser reposer quelques minutes en remuant et en retournant le flacon de temps en temps pour faciliter la dissolution.

L'enzyme d'extraction reconstituée doit être conservée entre 2 et 8°C pour garder son activité pendant au moins 3 mois après la reconstitution ou jusqu'à la date inscrite sur l'étiquette du flacon, si elle est antérieure. Pour garder son activité pendant au moins 6 mois ou jusqu'à la date inscrite sur l'étiquette du flacon d'origine (selon celle qui est la plus antérieure), l'enzyme peut également être conservée en aliquots congelés entre –15 et –25°C. NE PAS CONGELER ET DECONGELER PLUS D'UNE FOIS.

CONTROL +

Contrôle positif polyvalent

1 (ZL50/R30950501) ou 2 (ZL61/R30164701) flacon(s) compte-gouttes en plastique avec un bouchon rouge, contenant un extrait polyvalent d'antigènes provenant de souches représentatives de chacun des groupes A, B, C, D, F et G de streptocoques. La solution contient du tampon phosphate (pH 7,4) et de l'azide de sodium (0,1%) comme conservateur.

Le contrôle positif polyvalent doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8°C pour lui permettre de conserver son activité au moins jusqu'à la date inscrite sur l'étiquette du flacon.

PRECAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI

IVD

Les réactifs sont destinés exclusivement au diagnostic *in vitro*.

Les réactifs sont réservés exclusivement à un usage professionnel.

Pour des informations sur les composants potentiellement dangereux, se référer aux fiches de sécurité fournies par le fabricant et aux étiquettes du produit.

INFORMATIONS DE SECURITE

1. Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, il est fortement recommandé de traiter les extraits à n'importe quel stade du test comme s'ils étaient potentiellement infectieux et de les manipuler avec toutes les précautions nécessaires.
2. L'équipement non jetable doit être stérilisé en utilisant une procédure appropriée après l'emploi, bien que la méthode la plus appropriée soit la stérilisation par autoclave pendant 15 minutes à 121°C ; le matériel à usage unique doit être stérilisé par autoclave ou incinéré. Les éclaboussures de matériaux potentiellement infectieux doivent être éliminées immédiatement à l'aide d'un papier absorbant et les surfaces contaminées doivent être nettoyées avec un désinfectant anti-bactérien standard ou de l'alcool à 70%. Ne PAS utiliser d'hypochlorite de sodium. Le matériel utilisé pour le nettoyage des éclaboussures, y compris les gants, doit être éliminé comme s'il s'agissait de déchets biologiquement dangereux.
3. Ne pas effectuer de pipetages à la bouche. Pour manipuler les échantillons et effectuer le dosage, porter des gants à usage unique et une protection des yeux. Une fois le test terminé, se laver soigneusement les mains.
4. L'enzyme d'extraction lyophilisée contient du chlorure de calcium, produit classifié comme un produit irritant (Xi). Eviter le contact avec la peau et les yeux. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste
5. Les suspensions au latex et le contrôle positif polyvalent contiennent 0,1% d'azide de sodium, produit classifié selon les directives de la Communauté Economique Européenne (CEE) comme nocif (Xn). La nature des risques particuliers (R) attribués aux préparations dangereuses est la suivante :

   Xn **R22** Nocif en cas d'ingestion

Les azides peuvent réagir avec le cuivre ou le plomb des canalisations pour former des sels explosifs. Bien que les quantités utilisées soient faibles, il est conseillé de rincer abondamment à l'eau les canalisations dans lesquelles ont été déversés des réactifs contenant de l'azide.

6. Si les principes de bonnes pratiques de laboratoire, les consignes de sécurité et les instructions de la notice sont respectés, les réactifs fournis ne présentent pas de danger pour la santé.

PRECAUTIONS D'ANALYSE

1. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée.
2. Une contamination microbiologique des réactifs doit être évitée car elle peut réduire la durée d'utilisation du produit et provoquer des résultats erronés.
3. Amener tous les réactifs et les échantillons à température ambiante (18 à 30°C) avant l'emploi. Replacer les réactifs à la température de conservation recommandée imédiatement après emploi. Les Réactifs Latex montrant des signes d'agrégation lors de leur première utilisation peuvent avoir été congelés et ne doivent pas être utilisés.
4. Si la solution d'enzyme d'extraction a été contaminée (augmentation visible de la turbidité pendant la conservation), elle doit être jetée.
5. Il est important de tenir les flacons compte-gouttes verticalement et que la goutte se forme à l'extrémité de l'embout. Si l'embout du compte-gouttes est mouillé, un volume incorrect se forme autour de l'extrémité et non pas à la pointe ; si cela se produit, sécher l'embout avant de continuer.
6. Ne pas toucher les zones de réaction sur les cartes.

PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS ET PREPARATION DES CULTURES

Pour de plus amples informations sur le prélèvement des échantillons et la préparation des cultures primaires, se référer à un manuel standard[6]. Les milieux généralement utilisés comprennent de la gélose au sang, auquel cas la réaction hémolytique des colonies suspectées être des streptocoques doit être notée avant d'essayer de les grouper. On peut procéder à un groupage direct et fiable des streptocoques à partir des cultures mixtes sur les milieux d'isolement primaires solides à condition que les streptocoques ne soient pas mélangés avec d'autres organismes tels que Klebsiella, Escherichia ou Pseudomonas qui peuvent agglutiner de façon non spécifique tous les réactifs au latex. Le groupage par le système Streptex* ne doit pas être utilisé à partir de cultures primaires en milieu liquide. Si le groupage de cultures primaires ou de sous-cultures impures semblant contenir des streptocoques ne donne pas un résultat clair, il est recommandé de faire des sous-cultures pures des colonies suspectes pour pouvoir effectuer ultérieurement une identification par le système Streptex*.

Les organismes des groupes A, B, C, F ou G sont généralement bêta-hémolytiques. Si un organisme alpha-hémolytique ou non-hémolytique semble appartenir à l'un de ces groupes, il convient de confirmer l'identité de l'espèce par des tests biochimiques[7,16]. Comme les entérocoques sont relativement résistants à la pénicilline, la différenciation entre les organismes du groupe D entérocoques (*Enterococcus spp.*) et non-entérocoques (streptocoques du groupe D) doit être effectuée par un test d'hydrolyse du L-pyrrolidonyl-ß-naphthylamide (PYR) (Remel réf. LP02/R30854301 et LP03/R30854401) ou par culture sur milieu à la Bile Esculine ou sur milieu à 6,5% de NaCl[6] (Fig. 3). La production d'antigènes par les streptocoques du groupe D est considérablement améliorée par l'addition de 0,5 à 1% de glucose au milieu[14], mais avec une gélose au sang, la réaction d'hémolyse sera amoindrie.

PROCEDURE

MATERIEL FOURNI

Streptex* contains sufficient material for 50 tests (ZL50/R30950501) or 200 tests (ZL61/R30164701). Voir le tableau intitulé **Composition du coffret**.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Pipette pour la mesure et la distribution de volumes de 0,4 ml.
- Anse bactériologique.
- Pipettes distribuant des gouttes de 40 µl.
- Bain-marie à 37°C.
- Tubes à essai en verre ou en plastique (8 à 12 mm de diamètre interne) ; 1 tube par organisme à grouper.

PROCEDURE DU TEST

ATTENTION : Prendre toutes les précautions requises pour la manipulation de cultures vivantes au cours du test.

Un schéma proposé pour le groupage des organismes provenant de culture primaire ou de sous-culture est présenté à la figure 3.

Etape 1 Distribuer 400 µl d'enzyme d'extraction dans un tube convenablement étiqueté pour chaque culture à grouper.

Etape 2 A l'aide d'une anse bactériologique, préparer une suspension peu concentrée de la culture dans l'un des tubes contenant la solution d'enzyme. Une seule collecte de germes devrait suffire : il est souvent possible d'obtenir un résultat avec seulement 5 belles colonies pour émulsionner l'enzyme, à condition qu'elles adhèrent correctement à l'anse. Si la culture n'est pas pure, il est recommandé de prélever les colonies de streptocoques dans une zone contenant le moins de germes contaminants possible.

Etape 3 Incuber la suspension à 37°C au bain-marie (ou dans un bécher rempli d'eau maintenu à 37°C dans un incubateur) pendant 10 minutes au minimum, jusqu'à 1 heure. Agiter le tube après 5 minutes d'incubation.

Etape 4 Remettre en suspension chaque suspension latex en agitant vigoureusement pendant quelques secondes. Garder le flacon compte-gouttes en position verticale et distribuer 1 goutte (20 µl) de chaque suspension latex dans un cercle différent d'une carte de réaction.

REMARQUE : Lors de l'utilisation de flacons compte-gouttes, il est important de les garder en position verticale et de vérifier que la goutte se forme à l'extrémité de l'embout. Si l'embout du compte-gouttes est mouillé, un volume incorrect se forme autour de l'extrémité et non pas à la pointe ; dans ce cas, sécher l'embout avant de continuer.

Etape 5 A l'aide d'une pipette, placer une goutte (40 µl) d'extrait dans chacun des 6 cercles sur la carte de réaction.

Etape 6 A l'aide d'un bâtonnet d'homogénéisation, mélanger le contenu de chaque cercle (l'un après l'autre) et le répartir de manière à recouvrir complètement la surface du cercle. Utiliser un bâtonnet différent pour chaque cercle et le jeter selon les règles de sécurité appropriées après emploi.

Etape 7 Faire osciller doucement la carte pendant 1 minute maximum. La carte doit être maintenue à une distance normale de lecture (25 à 35 cm). Ne pas utiliser de loupe. Les motifs obtenus sont clairement séparés et sont facilement reconnaissables dans n'importe quelles conditions normales d'éclairage.

Etape 8 Jeter la carte de réaction utilisée selon les règles de sécurité appropriées.

Etape 9 S'assurer que les réactifs sont replacés au réfrigérateur (entre 2 et 8°C), dans le portoir de conservation fourni.

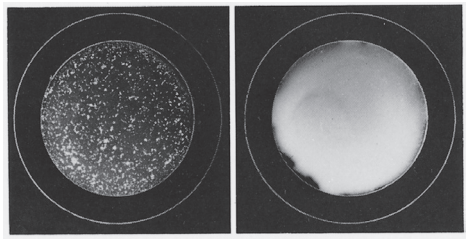
RÉSULTATS

LECTURE DES RESULTATS

Un résultat positif est caractérisé par le développement d'un motif d'agglutination montrant une agrégation nettement visible des particules de latex (fig. 1).

La vitesse d'apparition et la qualité de l'agglutination dépendent de la force de l'extrait d'antigène ; avec un extrait fort, de gros agrégats de particules de latex apparaîtront dans les quelques secondes qui suivent l'homogénéisation alors qu'avec un extrait faible, la réaction prendra beaucoup plus de temps et les agrégats de particules de latex seront petits.

Figure 1 Figure 2



Dans le cas d'un résultat négatif, le latex ne s'agglutine pas et l'aspect laiteux reste pratiquement inchangé pendant le test d'une minute (fig. 2). Noter cependant que de faibles traces de granularité peuvent être détectées dans les images négatives, selon l'acuité visuelle de l'opérateur.

CONTROLE QUALITE

Les tests de contrôle qualité doivent être réalisés sur chaque kit à la réception du numéro de lot de kit. Chaque laboratoire doit appliquer les réglementations nationales et locales.

Normalement, la performance du test est assurée par la présence d'une agglutination évidente dans l'une des suspensions latex seulement, les 5 autres suspensions ne montrant pas d'agglutination. Ce modèle de réaction suffit, dans la plupart des cas, pour démontrer la spécificité des réactifs et l'efficacité de la procédure d'extraction enzymatique. Si le modèle de réaction est différent, il est recommandé de suivre les procédures suivantes :

a) **Test de la réactivité des suspensions latex (procédure du contrôle positif)**
Distribuer 1 goutte (40 µl) de contrôle positif polyvalent à la place de l'échantillon à analyser ou avec celui-ci si aucune réaction n'a eu lieu au bout d'une minute. Mélanger le contenu de chaque cercle avec un bâtonnet d'homogénéisation neuf, en recouvrant la surface du cercle. Après avoir fait osciller doucement la carte pendant une minute, une agglutination bien nette doit se produire avec tous les tests au latex.

b) **Test de la spécificité de l'agglutination (procédure du contrôle négatif)**
Pour s'assurer que l'agglutination d'une suspension latex est spécifique, en particulier dans les cas d'agglutination très faible ou lorsque plus d'une suspension est agglutinée par un seul extrait, répéter le(s) test(s) positif(s) simultanément avec un (des) test(s) parallèle(s), en utilisant une goutte d'enzyme d'extraction à la place de l'extrait bactérien. La suspension latex ne doit pas présenter d'agglutination significative en présence d'enzyme d'extraction seul et le résultat sert de contrôle pour la comparaison directe avec le motif obtenu en présence de l'extrait bactérien.

c) **Test de la procédure d'extraction enzymatique**
Effectuer toute la procédure de test sur une culture principale d'un groupe connu. Des tests doivent être effectués occasionnellement avec différents groupes connus pour pouvoir évaluer la précision et l'efficacité de l'intégralité du système de test, y compris l'opérateur.

INTERPRETATION DES RESULTATS

En règle générale, seuls les streptocoques bêta-hémolytiques donnent des résultats fiables dans les techniques de groupage[6,8]. Il existe cependant des exceptions à cette règle puisque la majorité des souches des streptocoques du groupe D sont alpha-hémolytiques ou non-hémolytiques et que certaines souches du groupe B sont non-hémolytiques. Les organismes du groupe D doivent encore être classifiés comme entérocoques ou streptocoques du groupe D par culture sur milieu à la Bile-Esculine et sur milieu à 6,5% de NaCl ou par un test PYR[6] (Remel réf. LP02/R30854301 et LP03/R30854401) ; ceux réagissant avec les groupes A, C, F ou G peuvent être identifiés, si nécessaire, par des procédures biochimiques appropriées[16].

Une agglutination forte et rapide dans une seule des 6 suspensions latex indique l'identité de la souche analysée ; les réactions tardives et faibles avec le même extrait doivent être ignorées. Une force d'agglutination similaire obtenue avec plus d'une suspension latex (mais pas avec toutes) indique que l'extrait peut contenir un mélange de groupes de streptocoques ou d'autres bactéries contenant des antigènes entraînant une réactivité croisée ; il convient alors de procéder à un isolement plus poussé et/ou à des tests biochimiques. On a trouvé certaines souches de streptocoques du groupe D contenant également l'antigène du groupe G[1,11]. Ces souches réagiront à la fois avec les réactifs latex groupe D et groupe G et peuvent être confirmées comme groupe D, par le test à la Bile-Esculine[6]. Pour des raisons épidémiologiques et du fait que certaines de ces souches présentent un taux de résistance aux antibiotiques particulièrement élevé[1], il est important de les identifier correctement.

Une réaction faible et tardive avec une seule suspension latex indique généralement le groupe de la souche étudiée, mais il convient, si possible, de répéter le test avec une suspension cellulaire plus concentrée.

Quand une agglutination est si faible soulevant ainsi des doutes sur l'interprétation, le test de spécificité décrit au paragraphe **« Procédures du contrôle de qualité »** (b) doit être réalisé : la comparaison des deux images indiquera le résultat correct.

Une agglutination de tous les réactifs latex présentant un aspect filamenteux caractéristique indique : (a) une inoculation excessive de l'enzyme d'extraction, auquel cas l'extraction peut être refaite en utilisant une suspension moins concentrée ou (b) une contamination par un organisme interférent (voir le paragraphe **« Limites de la méthode »**) qui doit être éliminé par sous-culture ultérieure. Une fausse agglutination due à l'une ou l'autre de ces causes peut généralement être éliminée par chauffage de l'extrait dans de l'eau bouillante pendant 3 minutes. Si aucune des suspensions latex ne montre d'agglutination, il est probable que la culture n'appartienne à aucun des groupes que décèle le test. Un résultat négatif peut être également dû à l'emploi d'un trop petit nombre d'organismes pour l'extraction, en particulier avec les souches du groupe D, dont certaines fournissent moins d'antigènes que les autres groupes et avec les souches du groupe F qui ont des colonies minuscules, dont certaines adhèrent fortement à la surface de la gélose. Si un streptocoque identifié par culture ne donne d'agglutination nette avec aucune des suspensions latex, il peut être souhaitable de répéter l'extraction avec une plus grande quantité d'organismes.

LIMITES DE LA METHODE

Des résultats faussement négatifs peuvent apparaître si une quantité inadéquate de culture est utilisée pour l'extraction (voir le paragraphe **« Interprétation des résultats »**). Certaines souches de *Streptococcus bovis* et de *Enterococcus faecium* (groupe D) peuvent être difficiles à grouper.

Des résultats faussement positifs peuvent apparaître de façon occasionnelle avec des organismes provenant de genres non associés, par exemple Klebsiella, Escherichia ou Pseudomonas qui peuvent agglutiner de manière non spécifique tous les réactifs latex. Cependant, en examinant les caractéristiques de culture sur les milieux de croissance, l'opérateur peut généralement éliminer ces organismes de l'analyse. L'existence d'antigènes communs aux organismes provenant d'espèces ou de genres hétérologues a été démontrée pour certains streptocoques[2,5,15] ; en conséquence, la possibilité de réactions croisées de ce type dans les systèmes de groupage des streptocoques ne peut pas être éliminée. L'antigène du groupe D est commun aux organismes des groupes de streptocoques Q, R et S[5,15].

Les entérocoques sont relativement résistants à la pénicilline, mais les procédures sérologiques ne permettent pas de les différencier des streptocoques du groupe D. Des tests biochimiques, tels que l'hydrolyse du PYR (Remel réf. LP02/R30854301 et LP03/R30854401) ou la culture sur milieu à 6,5% de NaCl, peuvent être utilisés à cet effet. Pour des informations détaillées sur la différenciation biochimique des streptocoques, se référer à un manuel standard[6].

RÉSULTATS ESCOMPTÉS

Des extraits de streptocoques appartenant aux sérogroupes A, B, C, D, F ou G permettront d'obtenir une agglutination rapide et prononcée avec la suspension latex correspondante.

CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES[19]

Des études cliniques ont été réalisées dans 4 centres en Grande-Bretagne et 2 au Canada sur un total de 743 cultures de streptocoques (663 bêta-hémolytiques et 80 alpha-hémolytiques ou non-hémolytiques). On a analysé 290 cultures primaires, 451 sous-cultures et 2 cultures en bouillon. Les résultats obtenus par Streptex* après des extractions de 10 minutes et 60 minutes ont été comparés à ceux trouvés par une méthode de référence.

Les résultats obtenus à partir de 703 cultures de streptocoques des groupes A, B, C, D, F et G (638 bêta-hémolytiques et 65 alpha-hémolytiques ou non-hémolytiques) sont présentés dans les tableaux 1 et 2. Le système Streptex* a correctement identifié 698 cultures (99%) après une extraction de 10 minutes et la totalité (703) des cultures après 60 minutes d'extraction. 4 cultures bêta-hémolytiques (1 groupe B, 1 groupe D, 1 groupe F et 1 groupe G) ont "échappé" au test Streptex* après une extraction de 10 minutes mais ont pu être détectées correctement après une extraction de 60 minutes. Pour un cas de culture bêta-hémolytique, le groupage après une extraction de 10 minutes avait donné un sérotype G et un sérotype B après une extraction de 60 minutes. La culture, fortement contaminée par corynebacterium spp., n'était pas disponible pour une étude plus approfondie. Le corynebacterium spp. de cette culture n'a pas réagi avec le système Streptex*.

Par ailleurs, 13 cultures bêta-hémolytiques et 3 alpha- ou non-hémolytiques ont donné des réactions positives avec plus d'un groupe de streptocoques, avec la méthode de référence, le système Streptex* ou avec les deux. On présume qu'il s'agissait de cultures mixtes, mais cela n'a pas pu être confirmé.

24 cultures de streptocoques n'ayant pas été classifiées dans les groupes A, B, C, D, F ou G par la méthode de référence n'ont pas réagi avec le système Streptex*.

Tableau 1

Identification de la culture (extraction de 10 minutes)
Résultat Streptex*

		A	B	C	D	F	G	Pas de réaction
Méthode de référence	A	149						
	B		214[a]				1	1
	C			64				
	D				120[b]			1
	F					14		1
	G						137	1

[a] = 197 streptocoques bêta-hémolytiques + 17 alpha-hémolytiques ou non-hémolytiques

[b] = 72 streptocoques bêta-hémolytiques + 48 alpha-hémolytiques ou non-hémolytiques

Tableau 2

Identification de la culture (extraction de 60 minutes)
Résultat Streptex*

		A	B	C	D	F	G
Méthode de référence	A	149					
	B		216[a]				
	C			64			
	D				121[b]		
	F					15	
	G						138

[a] = 199 streptocoques bêta-hémolytiques + 17 alpha-hémolytiques ou non-hémolytiques

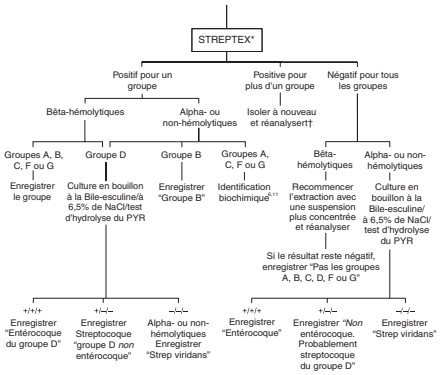
[b] = 73 streptocoques bêta-hémolytiques + 48 alpha-hémolytiques ou non-hémolytiques

Figure 3

Schéma proposé pour le groupage des streptocoques*[2,9]

Inspecter la culture de streptocoques pour déterminer le type d'hémolyse et les caractéristiques de culture (si la culture est alpha-hémolytique, exclure *Streptococcus pneumoniae*).

Si un organisme suspecté est en quantité insuffisante ou contaminé par un organisme interférent, faire une sous-culture.


STREPTEX*
Positif pour un groupe
Positive pour plus d'un groupe
Négatif pour tous les groupes
Bêta-hémolytiques
Alpha- ou non-hémolytiques
Isoler à nouveau et réanalyser†
Groupes A, B, C, F ou G
Groupe D
Groupe B
Groupes A, C, F ou G
Bêta-hémolytiques
Alpha- ou non-hémolytiques
Enregistrer le groupe
Culture en bouillon à la Bile-esculine/à 6,5% de NaCl/test d'hydrolyse du PYR
Enregistrer "Groupe B"
Identification biochimique[9,11]
Recommencer l'extraction avec une suspension plus concentrée et réanalyser
Culture en bouillon à la Bile-esculine/ à 6,5% de NaCl/ test d'hydrolyse du PYR
Si le résultat reste négatif, enregistrer "Pas les groupes A, B, C, D, F ou G"
+/+/+
+/–/–
–/–/–
+/+/+
+/–/–
–/–/–
Enregistrer "Entérocoque du groupe D"
Enregistrer Streptocoque "groupe D non entérocoque"
Alpha- ou non-hémolytiques Enregistrer "Strep viridans"
Enregistrer "Entérocoque"
Enregistrer "Non entérocoque. Probablement streptocoque du groupe D"
Enregistrer "Strep viridans"

†On a rencontré de rares souches possédant plus d'un groupe d'antigènes. Après avoir confirmé le bon fonctionnement des réactifs (voir le paragraphe **« Procédures du contrôle de qualité »**), les souches présentant des problèmes doivent être soumises à un laboratoire de référence pour leur identification.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Birch, B.R., Keaney, M.G.L.,** *et al* (1984). Antibiotic susceptibility and biochemical properties of *Streptococcus faecalis* strains reacting with both D and G antisera. *J. Clin. Path.,* 37, 1289.
2. **Chorpenning, F.W., Cooper, H.R.,** *et al* (1975). Cross-Reactions of *Streptococcus mutans* Due to Cell Wall Teichoic Acid. *Infect. Immun.,* 12, 586.
3. **Ederer, G.M., Herrmann, M.M.,** *et al* (1972). Rapid Extraction Method with Pronase B for Grouping Beta-Hemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.,* 23, 285.
4. **El Kholy, A., Wannamaker, L.W.,** *et al* (1975). Simplified Extraction Procedure for Serological Grouping of Beta-Hemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.,* 28, 836.
5. **Elliot, S.D. and Taj, J.Y.** (1978). The Type-Specific Polysaccharides of *Streptococcus suis. J. Exp. Med.,* 148, 1699.
6. **Facklam, R.R. and Carey, R.B.** (1991). Streptococci and Aerococci. *Manual of Clinical Microbiology, 5th Ed.,* Edited by Balows, A., Hausler, W.J., Herrman, K.L., Isenberg, H.D. and Shadomy, H.J. *American Society for Microbiology, Washington D.C.* Pages 238-257.
7. **Facklam, R.R.** (1977). Physiological Differentiation of Viridans Streptococci. *J. Clin. Microbiol.,* 5, 184.
8. **Facklam, R.R., Cooksey, R.C.,** *et al* (1979). Evaluation of Commercial Latex Agglutination Reagents for Grouping Streptococci. *J. Clin. Microbiol.,* 10, 641.
9. **Facklam, R.R. and Smith, P.B.** (1976). The Gram Positive Cocci. *Human Pathology,* 7, 187.
10. **Fuller, A.T.** (1938). The Formamide Method for the Extraction of Polysaccharides from Haemolytic Streptococci. *Brit. J. Exp. Path.,* 19, 130.
11. **Harvey, C.L. and McIllmurray, M.B.** (1984). Streptococci with dual antigen specificity for Lancefield groups D and G. *Eur. J. Clin. Microbiol.,* 3, 526.
12. **Lancefield, R.C.** (1938). A Micro Precipitin-Technic for Classifying Hemolytic Streptococci, and Improved Methods for Producing Antisera. *Proc. Soc. Exp. Biol., N.Y.,* 38, 473.
13. **Maxted, W.R.** (1948). Preparation of Streptococcal Extracts for Lancefield Grouping. *Lancet,* ii, 255.
14. **Medrek, T.F. and Barns, E.M.** (1962). The Influence of the Growth Medium on the Demonstration of a Group D Antigen in Faecal Streptococci. *J. gen. Microbiol.,* 28, 701.
15. **Nowlan, S.S. and Deibel, R.H.** (1967). Group Q Streptococci. 1. Ecology, Serology, Physiology, and Relationship to Established Enterococci. *J. Bact.,* 94, 291.
16. **Parker, M.T. and Ball, L.C.** (1976). Streptococci and Aerococci Associated with Systemic Infection in Man. *J. Med. Microbiol.,* 9, 275.
17. **Rantz, L.A. and Randall, E.** (1955). Use of Autoclaved Extracts of Hemolytic Streptococci for Serological Grouping. *Stanford Med. Bull.,* 13, 290.
18. **Watson, B.K., Moellering, R.C.,** *et al* (1975). Identification of Streptococci: Use of Lysozyme and *Streptomyces albus* Filtrate in the Preparation of Extracts for Lancefield Grouping. *J. Clin. Microbiol.,* 1, 274.
19. **Data on file**

cONDITIONNEMENT

REF ZL50/R30950501.....50 tests
ZL61/R30164701.....200 tests

Légende des symboles

REF	Référence de catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
	Consulter le mode d'emploi
	Limite de température (température de conservation)
LOT	Batch code (Lot Number)
	A utiliser avant (date de péremption)
	fabricant

CE

*Marque commerciale.

IFU X7829 révisé Mars 2012

Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
Royaume-Uni

Pour tout support technique, contacter le distributeur local.